云 南 植 物 研 究 7(2):210—216, 1985
Acta Botanica Yunnanica

云南松雌雄配子体的发育

刘成运

(中国科学院昆明植物研究所)

摘要 云南松（*Pinus yunnanensis* Fr.)雄配子体于10月在小孢子叶腹面产生二个小孢子囊，内有许多进行分裂的造孢组织细胞。第二年一月下旬至二月初小孢子母细胞进行减数分裂。在分裂期间，细胞内所贮存的淀粉粒的分布发生变化。二月初四分体小孢子形成，绒毡层细胞解体。二日中旬单核花粉粒形成，外壁扩展形成二个异极对称的气囊。三月花粉在四细胞时期散发。

雌配子体于二月上旬在珠心皮下分化出孢原细胞。二月下旬大孢子母细胞进入减数分裂期。三月初直列四分体大孢子形成，珠孔端三个退化，合点端一个功能大孢子进入有丝分裂期，形成约32个游离核的配子体。次年三月初雌配子体形成，四月初中央细胞核分裂，四月底颈卵器成熟，卵核周围产生辐射状原生质纤丝。五月初受精开始。云南松雌雄配子体的发育与亚热带分布的 *P. roburghii* 相似。

关键词 云南松；雌雄配子体

云南松广泛分布在云南、贵州西部、四川西南部，广西北部及西南部、西藏东南部亚热带地区，是一种重要的经济针叶树种。在松属植物中，我国胚胎学者已对分布在温带地区的白皮松（*P. bungeana*）和油松（*P. tabulaeformis*）等进行了受精过程及幼胚中几种酶的分布和淀粉动态的研究[1—4]。而对生长在我国西南亚热带地区的云南松有关胚胎学方面尚未见到有关的报道。本文就云南松雌雄配子体的形成过程进行了观察，并对发育过程中，特别是小孢子母细胞减数分裂过程中淀粉粒的分布动态作了较仔细的观察。并与温带树种白皮松和乔松（*P. wallichiana*）以及亚热带地区树种西藏长叶松（*P. roxburghii*）[9、10]的发育进行了比较，以期对我国亚热带地区松属植物的胚胎学和遗传选种等工作提供参考。

材 料 和 方 法

云南松（*P. yunnanensis* Fr.）的大小孢子叶球采自我所树木园内。自1983年2月至1984年6月，每5天采集一次。用那瓦兴及 FAA 二种固定液分别固定。石蜡切片，片厚10—12微米，用 PAS 及铁矾-苏木精染色。

本文于1984年8月29日收到。

结 果 与 讨 论

雄配子体的发育　于1983年10月至12月采集的雄球花，在每一小孢子叶的腹面上产生二个已发育的小孢子囊。在小孢子囊的横切面上，显示了3—4层壁层和内部药室中正在进行分裂的造孢组织细胞，至12月这些造孢细胞发育成为小孢子母细胞（图版Ⅰ，1）小孢子囊的表皮是经过多次垂周分裂所形成的，在表皮细胞内充满了被苏木精染成金黄色的丹宁物质及被PAS染成红色的多糖物质。这些贮藏物一直持留到单核小孢子形成时期才消失。壁层3—4层，细胞较扁平，特别是中层（与绒毡层相邻的一层）细胞核较小，细胞质也较稀疏贫乏。最内一层是绒毡层，细胞体积较大，核大而明显，细胞质浓稠。在造孢组织细胞时期，绒毡层细胞内只有很小量贮存淀粉粒。第二年一月下旬至二月上旬，当小孢子母细胞进入减数分裂期以后，绒毡层细胞内所贮存淀粉粒含量增加，颗粒的直径也开始增大。进入减数分裂的小孢子母细胞，细胞之间孢间隙增宽，核膜消失，染色质浓缩，出现染色质丝，此时细胞质内开始出现淀粉粒，直径约1微米，围绕在染色丝的四周（图版Ⅰ，2，图1，a）。随着减数分裂由前期Ⅰ进入中期Ⅰ，淀粉粒颗粒直径增至2微米，数量亦增多。当进入减数分裂中期Ⅰ时，淀粉粒分布在12对粗大染色体的四周（图版Ⅰ，3，图1，b）。进入减数分裂末期Ⅰ，当二个子核形成时，淀粉粒逐渐由四周迁移至二个子核之间，沿原来纺锤丝的方向分布（图版Ⅰ，4、5，图1，e）。当进入减数分裂中期Ⅱ，大量淀粉粒分布在二个配对的染色体组之间（图版Ⅰ，4、5，图1，f）。进入减数分裂后期Ⅱ和末期Ⅱ，淀粉粒又逐渐向周围细胞质移动（图版Ⅰ，4、5，图1，g、h）。当四分体小孢子形成时，淀粉粒向花粉粒赤道面的两侧及远极端移动。此时小孢子的外壁已开始向外扩展，是气囊发育的早期（图片Ⅰ，6，图1，i）。当单核花粉粒形成之后，花粉外壁进一步向外扩展，逐步形成二个对称的气囊，此时淀粉粒已大部分集中在粉体与气囊的交界部位（图版Ⅰ，7、8）、

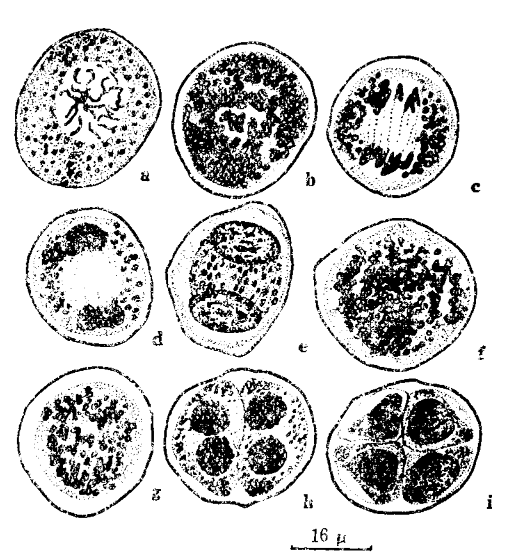


图1　小孢子母细胞减数分裂过程中淀粉粒分布的变化

Fig. 1. Changes on the distribution of starch grains during the reduction division for microspore mother cells.

在四分体形成之初期，绒毡层细胞多成双核，细胞内含有许多淀粉粒。而当四分体小孢子细胞壁开始形成时，周围相邻的绒毡层细胞壁开始解体，释放细胞内物质向药室内扩散。当单核花粉粒外壁进一步加厚时，附近绒毡层细胞逐渐解体。可能为花粉外壁形成并加厚过程中向外壁提供孢粉素物质，而绒毡

层细胞内大量的淀粉碳水化合物则转移到花粉细胞质内积累起来。图版Ⅰ，9左侧一个小孢囊内，绒毡层已失去内壁处于解体过程中，单核花粉粒已形成。右侧一个小孢子囊内小孢子已进入有丝分裂期，周围绒毡层细胞几乎全部解体。由图版Ⅰ，4，5及图版Ⅰ，9可以看出不同小孢子囊内小孢子的发育不是同步的，而在同一小孢子囊内，各小孢子之间发育也是不同步的。但当单核花粉粒开始形成时，小孢子之间逐渐趋于一致。当小孢子完全成熟时，花药外壁内含物质消失，药室内壁径向地伸长。此时单核花粉在很短时间内连续三次有丝分裂，第一次分裂形成原叶细胞1及胚性细胞，第二次分裂形成原叶细胞2及精子器原始细胞，此时原叶细胞1及2随即相继退化，只留下一染色斑痕，第三次分裂形成生殖细胞及管细胞，生殖细胞核较致密，孚尔根呈强阳性反应，管细胞核呈弱阳性反应[3]，管细胞质稀疏。当花粉处于四细胞时期，花粉囊破裂。释放出大量花粉，于3月份进入传粉期（图版Ⅰ，10）。

雌配子体的发育 云南松的胚珠具单层珠被，由4—5层细胞组成。珠心宽而厚，在珠孔端呈游离状，在合点端与珠被联合。随着珠心的生长，仅珠心顶端呈游离状。在珠心表皮下，于二月初分化出一孢原细胞，很快分裂形成一个大孢子母细胞及上部珠孔端的周缘细胞，并经过多次平周分裂，将大孢子母细胞推到珠心组织深处。二月下旬大孢子母细胞进入减数分裂期，在大孢子母细胞四周出现一些海绵组织细胞，四层左右，细胞大、核大，有时二个细胞核、细胞质浓稠，一般认为是对分裂的游离核提供营养物质。大孢子母细胞经过减数分裂形成一个直列四分体，近珠孔端的三个大孢子退化，仅合点端一个成为功能大孢子（图版Ⅱ，1—4）。功能大孢子不断地进行有丝分裂，形成许多游离核（图版Ⅱ，5）。为雌配子体形成的游离核阶段。至5月底，游离核的分裂逐渐停止，约32个游离核时期，进入休眠期。第二年二月初，休眠的游离核继续进行有丝分裂，至3月中旬，游离核分裂到大约2500个时，在雌配子体四周开始形成壁，并由外至内向心地进行（图版Ⅱ，6）。此时周围的海绵组织已完全被吸收利用。雌配子体体积扩大，在顶部珠孔端有2—4个细胞增大，即颈卵器原始细胞，它们分裂形成初生颈细胞与中央细胞。初生颈细胞进行二次垂周分裂，形成四个颈细胞。中央细胞扩大细胞体积，细胞质液泡化，并产生大小蛋白泡（图版Ⅱ，7）。在中央细胞四周出现一层套细胞包围在扩大的中央细胞外，这层细胞细胞核明显，细胞质浓，一直到颈卵器成熟，受精、原胚形成，幼胚发育。在发育过程中起着似珠被绒毡层的作用。4月中旬，中央细胞分裂，形成腹沟细胞及卵。卵核紧邻腹沟细胞，进一步腹沟细胞趋于退化，而卵核则逐步向着卵的中部迁移（图版Ⅱ，8、9）。4月底，卵细胞质液泡消失，大小蛋白泡发育成熟，数量加多，大蛋白泡分布在细胞质四周部分，小蛋白泡分布在近卵核周围，而卵核的四周产生一些呈辐射状的原生质细丝（图版Ⅱ，10）。这标志着卵的成熟[4]。而卵核的核仁不只一个，多有一个较大的核仁和数个较小的核仁，且核仁上出现数个核仁液泡（图版Ⅱ，11）。在许多文献中均报道核仁液泡的出现表明细胞生理代谢活性较高[5—8]。因此，在受精前，成熟的卵细胞代谢水平较高，然而这种较高的活性只是受精之前，随着以后受精过程的接近和到来，卵核内DNA的代谢发生变化，含量明显降低，这已在许多裸子植物及有花植物的受精前后组织化学及生物化学的研究中证实[10]。5月初，云南松进入受精期。

云南松与西藏长叶松、乔松及白皮松发育进程的比较[3、9、10]

从表1、2可以看出，云南松的发育进程与西藏长叶松接近，属于亚热带地区发育类型。西藏长叶松主要分布在我国西藏吉隆，在海拔2100—2300米以下。在沿喜马拉雅山自东至西的一些国家如不丹、锡金，尼泊尔、印度、巴基斯坦及阿富汗均有分布。乔松及白皮松的发育属于温带分布发育类型，发育期比亚热带地区稍迟二个月左右。乔松主要分布在我国西藏、印度、巴基斯坦等地。白皮松主要分布在我国华北地区。这四种松属植物除发育期有别外，在发育过程中，一些解剖形态特征均很接近。

表1. 雄配子体发育的比较

Table 1. The contract of the developments of male gametophyte

种类 Kind / 发育期 Development stage	云南松 *P. yunnanensis*	西藏长叶松 *P. roxburhii*	乔松 *P. wallichana*	白皮松 *P. lungeana*
造孢组织细胞分裂 Division in sporogenous cells	10月 Oct.	10月 Oct.	第二年4月初 Beginning of Apr. II	
小孢子母细胞分裂 Division in microspore mother cells	1月下旬至2月初 End of Jan. to beginning of Feb.	2月初 Beginning of Feb.	4月初 Beginning of Apr.	
四分体形成 Formation of tetrads	2月初至上旬 Early Feb. to first decade	2月初 Beginning of Feb.	5月初 Beginning of May	
单核花粉粒形成 Formation of uninucleate pollen grain	2月中旬 Middle of Feb.	2月底 End of Feb.	5月中 Middle of May	
花粉粒成熟及散发 Maturation and shedding of pollen	2月底至3月中旬 End of Feb. to beginning of Mar.	3月中旬至下旬 Middle to end Mar.	5月底至6月初 End of May to beginning of June	5月上旬 First decade of May

表2. 雌配子体发育比较

Table 2. The contract of the developments of female gametophyte

种类 Kind / 发育期 Development stage	云南松 *P. yunnanensis* (1)	西藏长叶松 *P. roxburhii* (2)	乔松 *P. wallichana* (3)	白皮松 *P. lungeana* (4)
皮下孢原细胞分化 Differention of hypodermal archesporial cell	2月初 Early Feb.	2月初 Early Feb.		

续表2.	(1)	(2)	(3)	(4)
大孢子母细胞减数分裂 Reduction divisions of megaspore mother cell	2月中旬 Middle of Feb.	2月中旬 Middle of Feb.	4月下旬 End of Apr.	
游离核分裂停止进入休眠 Stope of free nuclear divisions and into rest	5月底 End of May	3月底至4月初 End of March to beginning of Apr.	6月 June	
休眠期 Period of rest	9个月 9 months	9个月 9 months	8个月 8 months	
复苏期 Renewed activity	第二年2月初 Beginning of Feb. Ⅱ	第二年2月初 Beginning of Feb. Ⅱ	第二年2月初 Beginning of Feb. Ⅱ	
配子体生长完成 Completion of growth of gametophyte	4月初 Beginning of Apr.	3月中旬 Middle of March	4月底 End of Apr.	
颈卵器原始细胞分裂 Division in archegonial initial	4月上旬 First decade of Apr.	3月底 End of March	5月初 Beginning of May	5月中旬 Middle of May
颈卵器成熟 Maturation of archegonia	4月下旬 End of Apr.	4月中旬 Middle of Apr.	5月中旬 Middle of May	5月底 End of May
受精期 Fertilization stage	4月底5月初 End of Apr. to beginning of May	4月下旬 End of Apr.	5月底至6月初 End of May to beginning of June	初5月底至6月初 End of May to beginning of June

参 考 文 献

〔1〕 毋锡金，1980：油松幼胚中几种酶的组织化学定位研究。植物学报，22(2)：127—131。

〔2〕 毋锡金、陈祖铿、王伏雄，1979：油松胚胎发育过程中淀粉的动态。植物学报，21(2)：117—125。

〔3〕 陈祖铿、王伏雄，1982：白皮松受精作用的研究。植物学报，24(1)：10—16。

〔4〕 胡适宜、朱澂，1979：高等植物受精作用中雄性核和雌性核的融合。植物学报，21(1)：1—10。

〔5〕 Bal, A. K. and J. F. Payne, 1972: Nucleolar ultrastructure in the quiescent embryonic cells of the dry seed of *Allium cepa* L. *Experientia*, 28:600—682.

〔6〕 Deltour, R., A. Gautier and J. Fakan, 1979: Ultrastructural cytochemistry of the nucleus in *Zea mays* embryos during germination, *J. Cell Sci.*, 40:43—62.

〔7〕 Jones, K. W., 1965: The role of the nucleolus on the formation of ribosomes, J. Ultrastruct Res., 13: 257—262.

〔8〕 Jordan, E. G. and J. M. Chapman, 1973: Nucleolar and nuclear envelope ultrastructure in relation to cell activity. in discs of carrot root (*Daucus caroba* L.) *J. Exp. Bot.*, 24:197—209.

〔9〕 Konar, R. N. and Sundri ramchandani, 1958: The morphology and embryology of *Pinus wallichiana* Jack., *Phytomorpology*, 8(3, 4): 328—346.

[10] Konar, R. N., 1960: The morphology and embryology of *Pinus roxburghii* Sarg. with a comparison with *Pinus wallichiana* Jack. *Phytomorphology*, 10(3): 305—310.
[11] Raghavan, V. 1976: Experimental embryogenesis in vascular plants. (陈祖铿等译 1983) 科学出版社 第31—33页。

DEVELOPMENT OF THE MALE AND FEMALE GAMETOPHYTES IN PINUS YUNNANENSIS

Liu Chengyun

(*Kunming Institute of Botany, Academia Sinica*)

Abstract A collection made in October showed two well developed microsporangia, borne on the ventral surface of each microsporophyll. A mass sporogenous cells wwere dividing within the microsporangium. In the following spring, at end of January to early February, the microspore mother cells were beginning for reduction division. During the reduction division period, the distribution of starch grains change. The formation of tetrads at the early February, and tapetal were gradually disintegrated. The formation of uninucleate pollen grain at the middle of February. The pollen grain soon develops two extensions of the exine which form the two wings. It is heteroplar and radiosymmetric. The pollen in shed at the four-celled stage in March.

The differentiation of archesporial cell under the nucellus hypodermis loccurs in the early February. The megaspore mother cell begins reduction division at the end of February and results in the formation of a linear tetrad. At the microphar end, the three megaspores of the tetrad degenerate and only the lowest one functions. The formation of tetrad takes place during the early March. The function megaspore was beginning mitosis at the chalazal end, and formed about 32 free nuclear young gametophyte. In the following year, the female gametophyte beging to develop again in early March. The nucleus of the central cell divides to form two nuclei separated by a phragmoplast. The archegonia mature at the end of April. The radial cytoplasm fibres are formed round the egg nucleus. Fertilization is beginning at the early May. The development of female gametophyte of *Pinus yunnanensis* Fr. resembles that of the subtropical pines like *P. roxburghii*.

Key words: *P. yunnanensis*, Female and male gametophytes

EXPLANATION OF PLATES

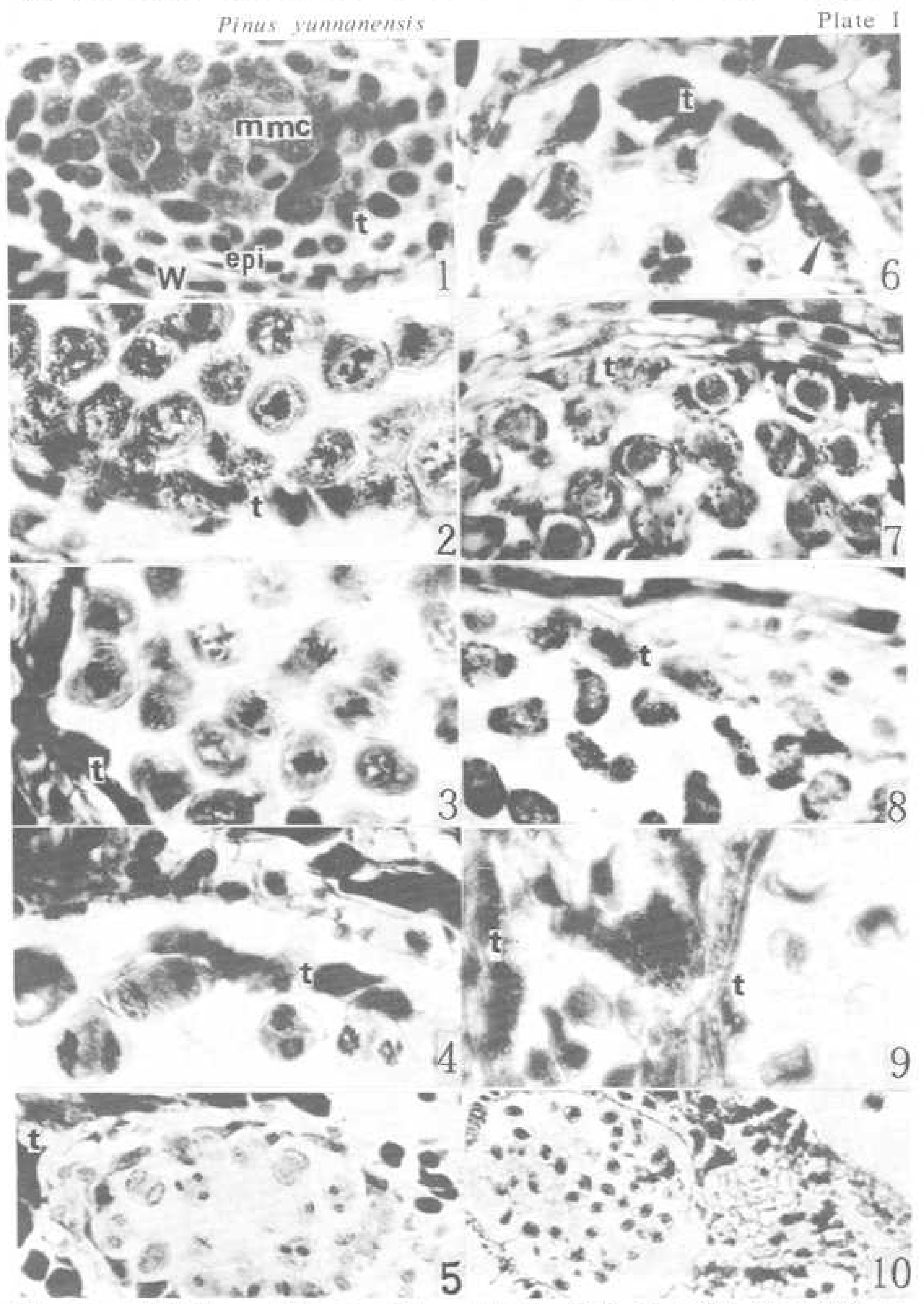
mmc microspore mother cell; t tapetum; epi epidermis; w wall layers; nc neck cell; cc central cell; vcc ventral canal cell; ec egg cell.

Plate I

1—10 ×400 1. Showing a mass microspore mother cells within the microsporangium. 2—5.Showing stages in division of the microspore mother cell. Note: Divisions are not synchronously.6. The formation of isobilateral and tetrahedral tetrads, showing the cell wall of tapetum is disintegated. 7—8. Uninucleate pollen grain, showing early saccus and starch grains. 9. Two microsporangia, showing the disintegated of tetrads. 10. A mature microsporangium. showing four celled pollen and the wall layer cells become radially elongated.

Plate II

1. Showing a megaspore mother cell ×800. 2. Dyad×1040. 3. Showing a nucleus is dividing at the chalazal end. This is an early linear tetrad ×1040. 4. A function megaspore, the three upper cells degenerated ×500. 5. Showing early free nuclei, the mitoses are beginning ×500. 6. Showing cell wall formation of free nuclei, beginning from the periphery of the female gametophyte ×600. 7. Showing neck cells and central cell ×800. 8. Ventral canal cell and egg nucleus ×600. 9. Showing neck cells and ventral canal cell ×600. 10. Showing the cytoplam fibres formed round the egg nucleus ×600. 11. Showing nucleolus vacuoles in the egg nucleus ×650.



代号：mmc－小孢子母细胞，t－绒毡层，epi－表皮层，w－壁层，nc －颈细胞，cc－中央细胞，vcc－腹沟细胞，ec－卵细胞，1－10×400。1．示一群小孢子母细胞在小孢子囊内。2－5．小孢子母细胞减数分裂期，注意：不同步的分裂。6．等面四分体细胞形成，示绒毡层细胞壁消失（箭头）。7－8．单核小孢子，示早期形成的气囊和淀粉粒的分布。9．二个相邻的小孢子囊，示绒毡层的消解。10．一个成熟的小孢子囊，示四细胞花粉及花药内壁细胞径向地伸长。

1.示大孢子母细胞，×800 。2.二分体大孢子，×1040。3.一个早期的直列四分体，示合点端一个核正在进行分裂，×1040。4.一个功能大孢子，珠孔端三个大孢子已退化，×500 。5.示早期的游离核正在进行有丝分裂，×500。6.示游离核从外围开始形成细胞壁，×600。7.示颈细胞与中央细胞，×800。8.示腹沟细胞和早期卵核，×600 。9.示颈细胞和腹沟细胞，×600。10.示卵核周围一些放射状细胞质纤丝，×600。11.示卵核中核仁液泡，×650。